

## TENT COOPERATION TRE/

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents  
United States Patent and Trademark  
Office  
Box PCT  
Washington, D.C.20231  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 04 October 2000 (04.10.00)	
International application No. PCT/DE00/00244	Applicant's or agent's file reference 400968
International filing date (day/month/year) 29 January 2000 (29.01.00)	Priority date (day/month/year) 30 January 1999 (30.01.99)
Applicant KREUTZER, Roland et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

11 September 2000 (11.09.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:2. The election ☐ was☒ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer R. Forax Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	--

## PCT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)  
 16 May 2001 (16.05.01)

International application No.  
 PCT/DE00/00244

Applicant's or agent's file reference  
 400968

International filing date (day/month/year)  
 29 January 2000 (29.01.00)

Priority date (day/month/year)  
 30 January 1999 (30.01.99)

Applicant  
 KREUTZER, Roland et al

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
 26 August 2000 (26.08.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

**CORRECTED  
 VERSION**

The International Bureau of WIPO  
 34, chemin des Colombettes  
 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Antonia Muller

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT IM GEBIET DES PATENTWESSENS

## PCT

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>400968</b>	<table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 50%; border-right: 1px solid black; padding: 2px;"> <b>WEITERES VORGEHEN</b> </td> <td style="padding: 2px;">                     siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5                 </td> </tr> </table>		<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5			
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/DE 00/ 00244</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>29/01/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>30/01/1999</b>		
Anmelder  <b>Kreutzer, Roland</b>				

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

#### 1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

#### 4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

#### 5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. \_\_\_\_\_

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☒ keine der Abb.

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
 IPK 7 C12N15/11 A61K31/713

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

**B. RECHERCHIERTE GEBIETE**

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 7 A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

**C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN**

Kategorie <sup>o</sup>	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 92 19732 A (GENSET) 12. November 1992 (1992-11-12)	1-29, 32-34, 37-43, 45-66, 69-71, 74-80, 82-102, 105-108, 112
Y	* Zusammenfassung, Seite 11 Z.18-28, Seiten 12-13, Seite 15 Z.22 bis Seite 20 Z.1, Seiten 33 und 46, Abbildungen 1-6 *  --- -/-	1-35, 37-43, 45-72, 74-80, 82-108, 110-112

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

<sup>o</sup> Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

6. Juni 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

20/06/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, T.x. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Gore, V

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 05770 A (ROTHBARTH KARSTEN ; JOSWIG GABY (DE); WERNER DIETER (DE); SCHUBERT) 12. Februar 1998 (1998-02-12)	1-29, 32-34, 37-43, 45-66, 69-71, 74-80, 82-102, 105-108, 112
Y	* Zusammenfassung, Seiten 2-3 *	1-35, 37-43, 45-72, 74-80, 82-108, 110-112
X,P	WO 99 32619 A (CARNEGIE INST OF WASHINGTON ; MONTGOMERY MARY K (US); FIRE ANDREW ( ) 1. Juli 1999 (1999-07-01)	1-29, 32-34, 37-43, 45-66, 69-71, 74-80, 82-102, 105-108, 112
Y	* Zusammenfassung, Seiten 6,11-12,15-17 *	
Y	UHLMANN E ET AL.: "ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES: A NEW THERAPEUTIC PRINCIPLE" CHEMICAL REVIEWS, US, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY. EASTON, Bd. 90, Nr. 4, 1. Juni 1990 (1990-06-01), Seiten 543-584, XP000141412 ISSN: 0009-2665 * Seiten 558,565-566,574-575 *	15-28, 52-65, 88-101
A	MADHUR K. ET AL.: "Antisense RNA : function and fate of duplex RNA in cells of higher eukaryotes." MICROBIOLOGY AND MOLECULAR BIOLOGY REVIEWS, Bd. 62, Dezember 1998 (1998-12), Seiten 1415-1434, XP000909741 * pages 1422-1423 and 1428 *	1-112

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

DE 00/00244

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9219732	A	12-11-1992	FR 2675803 A	30-10-1992
			AU 660679 B	06-07-1995
			AU 1759692 A	21-12-1992
			CA 2102229 A	26-10-1992
			EP 0581848 A	09-02-1994
			JP 6506834 T	04-08-1994
WO 9805770	A	12-02-1998	DE 19631919 A	12-02-1998
			EP 0918853 A	02-06-1999
WO 9932619	A	01-07-1999	AU 1938099 A	12-07-1999

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

REC'D 11 MAY 2001

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

WIPO PCT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 400968	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/00244	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/01/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 30/01/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		
Anmelder Kreutzer, Roland		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 6 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
 Diese Anlagen umfassen insgesamt 18 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  26/08/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  09.05.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Merckling, V  Tel. Nr. +49 89 2399 8590  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-23 ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-125 mit Telefax vom 09/04/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1-5 ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-125
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-125
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-125
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
**siehe Beiblatt**

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
**siehe Beiblatt**

1. Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1 : WO-A-9219732

D2 : WO-A-9805770

**Punkt V**

2. D1 beschreibt die medizinische Verwendung von geschlossenen und zirkulären Sinn oder anti-Sinn Oligonukleotiden. Diese Oligonukleotide weisen eine erhöhte Resistenz gegenüber Exonukleasen auf (siehe Zusammenfassung). Moleküle die aus DNA, RNA oder DNA/RNA bestehen, und die eine Haarschleife oder teilweise zirkuläre Struktur haben (d.h. teilweise doppelsträngig), werden auch in der Erfindung umfaßt (siehe S. 11 Zeile 18-28, S. 17 Zeile 23- S.20 Zeile 1, und Abbild. 1A-1C). Als zusätzlicher Schutz vor Abbau können auch die Oligonukleotide chemisch modifiziert sein (siehe S. 12-13), zum Beispiel durch chemische Verknüpfung der Nukleotide, die sich am Ende des selbstkomplementären Bereiches befinden (siehe S. 15 Z. 22- S. 17 Z.21 und Abbild. 1B und 4C). Der doppelsträngige Bereich kann zum Teil eine zum Zielgen komplementäre Sequenz enthalten (siehe S. 25 und Beispiel 4-2). Die in den Beispielen beschriebenen Oligonukleotide bestehen aus weniger als 50 Nukleotiden (siehe Abbild. 1-6). Zur Verabreichung können die Nukleotide in Liposomen eingeschlossen werden (siehe S. 16 Z. 21-24 und S. 33) oder mit Hüllproteinen assoziiert werden (S. 16 Z. 26-29). Solche Verbindungen sind zur Antiviral- oder Krebstherapie geeignet (S. 31-32).
- Die Erfindung von D2 betrifft die Verwendung von Anti-Sinn RNA mit einer besonderen Sekundärstruktur zur Hemmung der Genexpression (siehe Zusammenfassung). Die Sekundärstruktur kann eine Haarschleife oder ein Palindrom sein (S.2 Abschnitt 2). Die RNA kann durch Lipofektion in die Zellen verabreicht werden (S.3 Abschnitt 2). Die Anti-Sinn Therapie mit einer RNA, die zu einem therapeutischen Zielgen komplementär ist, kann mit der Verabreichung von (ds)RNase, entweder als Protein oder als ein für sie kodierender Vektor, kombiniert werden (S.3 Abschnitt 2). Die Anti-Sinn RNA kann zur Therapie von Tumoren oder virale Infektionen verwendet werden (s.3 Abschnitt 3).

- 2.1 Die Anmeldung betrifft Medikamente oder Wirkstoffe zur Hemmung der Expression eines vorgegebenen Zielgens, enthaltend mindestens einen Oligoribonukleotid von doppelsträngiger aus zwei separaten RNA-Einzelsträngen gebildeter Struktur (dsRNA), wobei ein Strang des dsRNA einen zum Zielgen komplementären Bereich aufweist und dadurch gekennzeichnet, daß der komplementäre Bereich weniger als 25 aufeinanderfolgende Nukleotidpaare aufweist.

In D1 werden zwar Anti-Sinn Oligonukleotide beschrieben, die teilweise doppelsträngig sind und deren dsRNA Bereiche aus weniger als 25 Nukleotidpaare bestehen. Diese dsRNA Bereiche entsprechen aber nicht die zum Zielgen komplementäre Bereiche (s. Seite 46 und Abbild. 6). Ansprüche 1-125 sind gegenüber den Stand der Technik neu.

3. D1, das als nächstkommender Stand der Technik erachtet wird, befaßt sich mit dem technischen Problem der Stabilisierung von Anti-Sinn Oligonukleotiden, insbesondere gegenüber Abbau durch Exonukleasen. Das Problem wird gelöst durch Herstellung von Oligonukleotiden, die keine freie Enden haben (S. 9 Z. 21-34), d.h. entweder zirkuläre Oligonukleotide oder Oligonukleotide deren Enden chemisch verknüpft sind. Teilweise doppelsträngige Oligonukleotide sind auch im Bereich der Erfindung in D1 (Abbild. 1B und 4C).

Die Aufgabe der Anmeldung ist die Herstellung eines Medikamentes, enthaltend ein Anti-Sinn Oligonukleotid, das besonders wirksam die Expression eines Zielgens hemmen kann. Diese besonders wirksame Hemmung entsteht auch dadurch, daß der Abbau vom Anti-Sinn Oligonukleotid gehemmt wird. Die Anmeldung löst diese Aufgabe durch Herstellung eines Oligonukleotides dessen dsRNA Bereich weniger als 25 Nukleotidpaare aufweist.

Die technische Aufgabe in D1 und in der Anmeldung ist grundsätzlich diesselbe, da das Problem der Stabilisierung eines Anti-Sinn Oligonukleotides nicht vom Problem der Effizienz der Hemmung des Zielgens trennbar ist. Jedoch ist es für den Fachmann nicht naheliegend gegenüber D1, daß Oligonukleotide gemäß Anspr. 1-125 diese technische Aufgabe lösen würden. Es gibt kein Hinweis im Stand der Technik, Anti-Sinn Oligonukleotide herzustellen, die einen zum Zielgen komplementären dsRNA Bereich enthalten, der weniger als 25 Nukleotidpaare aufweist. Ansprüche 1-125 sind erfinderisch.

**Punkt VIII**

4. Anspruch 125 ist nicht klar : der Anspruch sollte sich auf Anspruch 124 (und nicht 125) beziehen.

## 5

dadurch gekennzeichnet, daß

2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei die dsRNA in micellare Strukturen, vorzugsweise in Liposomen, eingeschlossen wird.

20

25

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei  
30 das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen,  
Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Entwicklungsgen, Prionen.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimiert wird.
- 5 7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.
8. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.
- 10 9. Verfahren nach Anspruch 7, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei  
15 die dsRNA abschnittsweise doppelsträngig ausgebildet ist.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Enden der dsRNA modifiziert werden, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzu-  
20 wirken.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine, vor-  
25 zugsweise zwei, weitere chemische Verknüpfung/en erhöht wird.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bindung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechsel-  
30 wirkungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwirkungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung an mindestens einem, vorzugsweise an beiden, Enden der doppelsträngigen Struktur hergestellt wird.
- 5 15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet wird, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder Polyethylenglycol-Ketten sind.
- 10 16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in der doppelsträngigen Struktur anstelle von Purinen benutzten Purinanaloga gebildet wird.
- 15 17. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch in die doppelsträngige Struktur eingeführte Azabenzoleinheiten gebildet wird.
18. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei  
20 die chemische Verknüpfung durch in der doppelsträngigen Struktur anstelle von Nukleotiden benutzten verzweigten Nukleotidanaloga gebildet wird.
19. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei  
25 zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N<sup>-</sup>-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.
- 30 20. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung durch an den Enden der doppelsträngigen Struktur angebrachte Thiophosphoryl-Gruppen gebildet wird.

21. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die chemische Verknüpfung an den Enden der doppelsträngigen Struktur durch Tripelhelix-Bindungen hergestellt wird.

5 22. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei mindestens eine 2'-Hydroxylgruppe der Nukleotide der dsRNA in der doppelsträngigen Struktur durch eine chemische Gruppe, vorzugsweise eine 2'-Amino- oder eine 2'-Methylgruppe, ersetzt ist.

10

23. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei mindestens ein Nukleotid in mindestens einem Strang der doppelsträngigen Struktur ein "locked nucleotide" mit einem, vorzugsweise durch eine 2'-O, 4'-C-Methylenbrücke, chemisch modifi-

15 fizierten Zuckerring ist.

24. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die dsRNA an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüll-

20 protein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben wird.

25. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

25 26. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

27. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei

30 bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

28. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei ein Strang der dsRNA zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

5 29. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

30. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei  
10 mindestens zwei voneinander verschiedene dsRNAs in die Zelle eingeführt werden, wobei ein Strang jeder dsRNA zumindest abschnittsweise komplementär zu jeweils einem von mindestens zwei verschiedenen Zielgenen ist.

15 31. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei eines der Zielgene das PKR-Gen ist.

32. Medikament mit mindestens einem Oligoribonukleotid von doppelsträngiger aus zwei separaten RNA-Einzelsträngen gebil-  
20 deter Struktur (dsRNA) zur Hemmung der Expression eines vorgegebenen Zielgens, wobei ein Strang der dsRNA einen zum Zielgen komplementären Bereich aufweist,

dadurch gekennzeichnet, daß

25 der komplementäre Bereich weniger als 25 aufeinanderfolgende Nukleotidpaare aufweist.

33. Medikament nach Anspruch 32, wobei die dsRNA verpackt in  
30 micellare Strukturen, vorzugsweise in Liposomen, vorliegt.

34. Medikament nach einem der Ansprüche 32 oder 33, wobei die dsRNA in virale natürliche Kapside oder in auf chemischem oder

enzymatischem Weg hergestellte künstliche Kapside oder davon abgeleitete Strukturen eingeschlossen ist.

35. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 34, wobei das  
5 Zielgen in eukaryontischen Zellen exprimierbar ist.

36. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 35, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Entwicklungsgen, Priongen.

10

37. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 36, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimierbar ist.

15 38. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 37, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

39. Medikament nach Anspruch 38, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

20

40. Medikament nach Anspruch 38, wobei das Virus oder Viroid ein tierpathogenes Virus oder Viroid ist.

41. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 40, wobei die  
25 dsRNA abschnittsweise doppelsträngig ausgebildet ist.

42. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 40, wobei die Enden der dsRNA modifiziert werden, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.  
30

43. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 42, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt

44. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 43, wobei die  
5 chemische Verknüpfung durch eine kovalente oder ionische Bin-  
dung, eine Wasserstoffbrückenbindung, hydrophobe Wechselwir-  
kungen, vorzugsweise van-der-Waals- oder Stapelungswechselwir-  
kungen, oder durch Metall-Ionenkoordination gebildet wird.

46. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 45, wobei die  
15 chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungs-  
gruppen gebildet ist, wobei die Verbindungsgruppen vorzugswei-  
se Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder Polyethy-  
lenglycol-Ketten sind.

48. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 47, wobei die  
25 chemische Verknüpfung durch in die doppelsträngige Struktur  
eingeschaltete Azabenzoleinheiten gebildet ist.

50. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 49, wobei zur Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der

folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N<sup>+</sup>-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.

- 5 51. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 50, wobei die chemische Verknüpfung durch an den Enden der doppelsträngigen Struktur vorgesehene Thiophosphoryl-Gruppen gebildet ist.
52. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 51, wobei die  
10 chemische Verknüpfung an den Enden der doppelsträngigen Struktur vorgesehene Tripelhelix-Bindungen sind.
53. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 52, wobei mindestens eine 2'-Hydroxylgruppe der Nukleotide der dsRNA in der  
15 doppelsträngigen Struktur durch eine chemische Gruppe, vorzugsweise eine 2'-Amino- oder eine 2'-Methylgruppe, ersetzt ist.
54. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 53, wobei mindestens ein Nukleotid in mindestens einem Strang der doppel-  
20 strängigen Struktur ein "locked nucleotide" mit einem, vorzugsweise durch eine 2'-O, 4'-C-Methylenbrücke, chemisch modifizierten Zuckerring ist.
- 25 55. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 54, wobei die dsRNA an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben ist.
- 30 56. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 55, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

57. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 56, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.
- 5 58. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 57, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.
- 10 59. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 58, wobei ein Strang der dsRNA zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.
60. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 59, wobei die  
15 Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.
61. Medikament nach einem der Ansprüche 32 bis 60, wobei darin mindestens zwei voneinander verschiedene dsRNAs enthalten sind, wobei ein Strang jeder dsRNA zumindest abschnittsweise  
20 komplementär zu jeweils einem von mindestens zwei verschiedenen Zielgenen ist.
62. Medikament nach Anspruch 61, wobei eines der Zielgene das  
25 PKR-Gen ist.
63. Wirkstoff mit mindestens einem Oligoribonukleotid von doppelsträngiger aus zwei separaten RNA-Einzelsträngen gebildeter Struktur (dsRNA) zur Hemmung der Expression eines vorgegebenen Zielgens, wobei ein Strang der dsRNA einen zum Zielgen  
30 komplementären Bereich aufweist, und wobei das Zielgen Bestandteil eines pflanzenpathogenen Virus oder Viroids ist, dadurch gekennzeichnet, daß

65. Wirkstoff nach Anspruch 63 oder 64, wobei die dsRNA abschnittsweise doppelsträngig ausgebildet ist.

15 67. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 66, wobei der durch die komplementären Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine, vorzugsweise zwei, weitere chemische Verknüpfung/en erhöht wird.

25

69. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 68, wobei die chemische Verknüpfung an mindestens einem, vorzugsweise an beiden, Enden der doppelsträngigen Struktur hergestellt wird.

30 70. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 69, wobei die chemische Verknüpfung mittels einer oder mehrerer Verbindungsgruppen gebildet ist, wobei die Verbindungsgruppen vorzugsweise Poly-(oxyphosphinicooxy-1,3-propandiol)- und/oder Polyethylenglycol-Ketten sind.

71. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 70, wobei die chemische Verknüpfung durch in der doppelsträngigen Struktur anstelle von Purinen benutzten Purinanaloga gebildet ist.
- 5 72. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 71, wobei die chemische Verknüpfung durch in die doppelsträngige Struktur eingeschaltete Azabenzoleinheiten gebildet ist.
73. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 72, wobei die  
10 chemische Verknüpfung durch in der doppelsträngigen Struktur anstelle von Nukleotiden benutzten verzweigten Nukleotidanaloga gebildet ist.
74. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 73, wobei zur  
15 Herstellung der chemischen Verknüpfung mindestens eine der folgenden Gruppen benutzt wird: Methylenblau; bifunktionelle Gruppen, vorzugsweise Bis-(2-chlorethyl)-amin; N-acetyl-N'-(p-glyoxyl-benzoyl)-cystamin; 4-Thiouracil; Psoralen.
- 20 75. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 74, wobei die chemische Verknüpfung durch an den Enden der doppelsträngigen Struktur vorgesehene Thiophosphoryl-Gruppen gebildet ist.
76. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 75, wobei die  
25 chemische Verknüpfung an den Enden der doppelsträngigen Struktur vorgesehene Tripelhelix-Bindungen sind.
77. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 76, wobei mindestens eine 2'-Hydroxylgruppe der Nukleotide der dsRNA in der  
30 doppelsträngigen Struktur durch eine chemische Gruppe, vorzugsweise eine 2'-Amino- oder eine 2'-Methylgruppe, ersetzt ist.

78. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 77, wobei mindestens ein Nukleotid in mindestens einem Strang der doppelsträngigen Struktur ein "locked nucleotide" mit einem, vorzugsweise durch eine 2'-O, 4'-C-Methylenbrücke, chemisch modifizierten Zuckerring ist.

79. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 78, wobei ein Strang der dsRNA zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

10

80. Wirkstoff nach einem der Ansprüche 63 bis 79, wobei darin mindestens zwei voneinander verschiedene dsRNAs enthalten sind, wobei ein Strang jeder dsRNA zumindest abschnittsweise komplementär zu jeweils einem von mindestens zwei verschiedenen Zielgenen ist.

15

81. Verwendung eines Oligoribonukleotids von doppelsträngiger aus zwei separaten RNA-Einzelsträngen gebildeter Struktur (dsRNA) zur Herstellung eines Medikaments oder Wirkstoffs zur Hemmung der Expression eines vorgegebenen Zielgens, wobei ein Strang der dsRNA einen zum Zielgen komplementären Bereich aufweist,

20

dadurch gekennzeichnet, daß

25

der komplementäre Bereich weniger als 25 aufeinanderfolgende Nukleotidpaare aufweist.

82. Verwendung nach Anspruch 81, wobei die dsRNA verpackt in micellare Strukturen, vorzugsweise in Liposomen, vorliegt.

30

83. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 oder 82, wobei die dsRNA in virale natürliche Kapside oder in auf chemischem oder

enzymatischem Weg hergestellte künstliche Kapside oder davon abgeleitete Strukturen eingeschlossen ist.

84. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 83, wobei das  
5 Zielgen in eukaryontischen Zellen exprimierbar ist.

85. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 84, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Entwicklungsgen, Priongen.

10

86. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 85, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimierbar ist.

15 87. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 86, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

88. Verwendung nach Anspruch 87, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

20

89. Verwendung nach Anspruch 87, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

90. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 89, wobei die  
25 dsRNA abschnittsweise doppelsträngig ausgebildet ist.

91. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 90, wobei die Enden der dsRNA modifiziert sind, um einem Abbau in der Zelle oder einer Dissoziation in die Einzelstränge entgegenzuwirken.

30

92. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 91, wobei der durch die Nukleotidpaare bewirkte Zusammenhalt der doppelsträngigen Struktur durch mindestens eine, vorzugsweise zwei, weitere chemische Verknüpfung/en erhöht ist.

5

10

15

20

eingeführte Azabenzoleinheiten gebildet ist.

25

30

100. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 99, wobei die chemische Verknüpfung durch an den Enden der doppelsträngigen Struktur angebrachte Thiophosphoryl-Gruppen gebildet ist.

- 5 101. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 100, wobei die chemische Verknüpfung an den Enden der doppelsträngigen Struktur durch Tripelhelix-Bindungen hergestellt ist.

- 10 102. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 101, wobei mindestens eine 2'-Hydroxylgruppe der Nukleotide der dsRNA in der doppelsträngigen Struktur durch eine chemische Gruppe, vorzugsweise eine 2'-Amino- oder eine 2'-Methylgruppe, ersetzt ist.

- 15 103. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 102, wobei mindestens ein Nukleotid in mindestens einem Strang der doppelsträngigen Struktur ein "locked nucleotide" mit einem, vorzugsweise durch eine 2'-O, 4'-C-Methylenbrücke, chemisch modifizierten Zuckerring ist.

20

104. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 103, wobei die dsRNA an mindestens ein von einem Virus stammendes, davon abgeleitetes oder ein synthetisch hergestelltes virales Hüllprotein gebunden, damit assoziiert oder davon umgeben ist.

25

105. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 104, wobei das Hüllprotein vom Polyomavirus abgeleitet ist.

- 30 106. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 105, wobei das Hüllprotein das Virus-Protein 1 (VP1) und/oder das Virus-Protein 2 (VP2) des Polyomavirus enthält.

107. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 106, wobei bei Bildung eines Kapsids oder kapsidartigen Gebildes aus dem

Hüllprotein die eine Seite zum Inneren des Kapsids oder kapsidartigen Gebildes gewandt ist.

108. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 107, wobei ein  
5 Strang der dsRNA zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

109. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 108, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

10

110. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 109, wobei mindestens zwei voneinander verschiedene dsRNAs verwendet werden, wobei ein Strang jeder dsRNA zumindest abschnittsweise komplementär zu jeweils einem von mindestens zwei verschiedenen Zielgenen ist.  
15

111. Verwendung nach Anspruch 110, wobei eines der Zielgene das PKR-Gen ist.

20 112. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 111, wobei das Medikament in die Blutbahn oder das Interstitium des zu therapierenden Organismus injizierbar ist.

113. Verwendung nach einem der Ansprüche 81 bis 112, wobei die  
25 dsRNA in Bakterien oder Mikroorganismen aufgenommen ist.

114. Verwendung eines Vektors zur Kodierung mindestens eines Oligoribonukleotids von doppelsträngiger aus zwei separaten RNA-Einzelsträngen gebildeter Struktur (dsRNA) zur Herstellung  
30 eines Medikaments oder Wirkstoffs zur Hemmung der Expression eines vorgegebenen Zielgens, wobei ein Strang der dsRNA einen zum Zielgen komplementären Bereich aufweist,

dadurch gekennzeichnet, daß

der komplementäre Bereich weniger als 25 aufeinanderfolgende Nukleotidpaare aufweist.

115. Verwendung nach Anspruch 114, wobei das Zielgen in eukaryontischen Zellen exprimierbar ist.

116. Verwendung nach Anspruch 114 oder 115, wobei das Zielgen aus der folgenden Gruppe ausgewählt ist: Onkogen, Cytokin-Gen, Id-Protein-Gen, Entwicklungsgen, Prionen.

10

117. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 116, wobei das Zielgen in pathogenen Organismen, vorzugsweise in Plasmodien, exprimierbar ist.

15 118. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 117, wobei das Zielgen Bestandteil eines Virus oder Viroids ist.

119. Verwendung nach Anspruch 118, wobei das Virus ein humanpathogenes Virus oder Viroid ist.

20

120. Verwendung nach Anspruch 118, wobei das Virus oder Viroid ein tier- oder pflanzenpathogenes Virus oder Viroid ist.

121. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 120, wobei  
25 die dsRNA abschnittsweise doppelsträngig ausgebildet ist.

122. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 121, wobei ein Strang der dsRNA zum primären oder prozessierten RNA-Transkript des Zielgens komplementär ist.

30

123. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 122, wobei die Zelle eine Vertebratenzelle oder eine menschliche Zelle ist.

124. Verwendung nach einem der Ansprüche 114 bis 123, wobei mindestens zwei voneinander verschiedene dsRNAs verwendet werden, wobei ein Strang jeder dsRNA zumindest abschnittsweise komplementär zu jeweils einem von mindestens zwei verschiedenen Zielgenen ist.

125. Verwendung nach Anspruch 125, wobei eines der Zielgene das PKR-Gen ist.

Translation  
09/889 802

PATENT COOPERATION TREATY

# PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 400968	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/DE00/00244	International filing date (day/month/year) 29 January 2000 (29.01.00)	Priority date (day/month/year) 30 January 1999 (30.01.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/11		
Applicant KREUTZER, Roland		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.	
2. This REPORT consists of a total of <u>6</u> sheets, including this cover sheet.	
<input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).	
These annexes consist of a total of <u>18</u> sheets.	
3. This report contains indications relating to the following items:	
I	<input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report
II	<input type="checkbox"/> Priority
III	<input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
IV	<input type="checkbox"/> Lack of unity of invention
V	<input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
VI	<input type="checkbox"/> Certain documents cited
VII	<input type="checkbox"/> Certain defects in the international application
VIII	<input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 26 August 2000 (26.08.00)	Date of completion of this report 09 May 2001 (09.05.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

national application No.

PCT/DE00/00244

## I. Basis of the report

## 1. With regard to the elements of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
pages 1-23, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages 1-125, filed with telefax of 09.04.2001
- ☒ the drawings:  
pages 1-5, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

## 2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

## 3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1 - 125	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1 - 125	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1 - 125	YES
	Claims		NO

**2. Citations and explanations****1. Reference is made to the following documents:**

D1: WO-A-92/19732

D2: WO-A-98/05770.

2. D1 describes the medical use of closed and circular sense or anti-sense oligonucleotides. These oligonucleotides have increased resistance to exonucleases (see abstract). Molecules consisting of DNA, RNA or DNA/RNA and having a hairpin or partially circular structure (i.e. partially double-stranded) are also covered by the invention (see page 11, lines 18 to 28; page 17, line 23, to page 20, line 1; and Figures 1A to 1C). To provide additional protection against breakdown the oligonucleotides can also be chemically modified (see pages 12 and 13), for example by chemical bonding of the nucleotides located at the end of the self-complementary region (see page 15, line 22, to page 17, line 21; and Figures 1B and 4C). Part of the double-stranded region can contain a sequence that complements the target gene (see page 25 and Example 4-2). The oligonucleotides described in the examples comprise fewer than 50 nucleotides (see

Fig. 1-6). For administration, the nucleotides can be enclosed in liposomes (see page 16, lines 21 to 24, and page 33) or associated with envelope proteins (page 16, lines 26 to 29). Compounds of this type are suitable for antiviral or cancer therapy (pages 31 and 32).

The invention of D2 concerns the use of anti-sense RNA with a special secondary structure for inhibiting gene expression (see abstract). The secondary structure can be a hairpin or palindrome (page 2, paragraph 2). The RNA can be administered to the cells by lipofection (page 3, paragraph 2). The anti-sense therapy with an RNA that is complementary to a therapeutic target gene can be combined with the administration of (ds)RNase, either as a protein or a vector coding therefor (page 3, paragraph 2). The anti-sense RNA can be used for treating tumours or viral infections (page 3, paragraph 3).

- 2.1 The application concerns drugs or active substances for inhibiting the expression of a predetermined target gene and containing at least one oligoribonucleotide of double-stranded structure (dsRNA) formed from two separate RNA individual strands, one strand of the dsRNA having a region complementary to the target gene and characterized in that the complementary region has fewer than 25 successive nucleotide pairs.

Although D1 describes anti-sense oligonucleotides of which some are double-stranded and of which the dsRNA regions consist of fewer than 25 nucleotide pairs, these dsRNA regions do not correspond to the

regions that complement the target gene (see page 46 and Figure 6). Claims 1 to 125 are novel with respect to the prior art.

3. D1, which is considered the closest prior art, concerns the technical problem of stabilizing anti-sense oligonucleotides, in particular with respect to breakdown owing to exonucleases. The problem is solved by producing oligonucleotides that have no free ends (page 9, lines 21 to 34), that is, either circular oligonucleotides or oligonucleotides of which the ends are chemically bonded. Partially double-stranded oligonucleotides also fall within the scope of the invention in D1 (Figures 1B and 4C).

The object of the application is to produce a drug containing an anti-sense oligonucleotide which can inhibit the expression of a target gene in a particularly effective manner. This particularly effective inhibition also arises as a result of the fact the breakdown of the anti-sense oligonucleotide is inhibited. The application achieves this object by producing an oligonucleotide of which the dsRNA region comprises fewer than 25 nucleotide pairs.

The technical problem in D1 and in the application is essentially the same, since the problem of stabilizing an anti-sense oligonucleotide is inseparable from the problem of efficient inhibition of the target gene. However, it is not obvious to a person skilled in the art in light of D1 that oligonucleotides as per Claims 1 to 125 would solve this technical problem. The prior art does not suggest producing anti-sense oligonucleotides

containing a dsRNA region which complements the target gene and comprises fewer than 25 nucleotide pairs. Claims 1 to 125 are inventive.

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

4. Claim 125 is unclear: the claim should refer to Claim 124 (not 125).